

7. Ashizawa, Zoghbi, *Diseases inherited with trinucleotide repeat expansion*,. In: Appel SH, ed. *Current Neurology*, Amsterdam:IOS Press, 1997;17:79–135.

8. Shelbourne, Davies, Buxton et al., *Direct diagnosis of myotonic dystrophy with a disease-specific DNA marker*, Engl., Med, 1993, 328:471–475.

Rezumat

Distrofia musculară miotonică (DMM) este cea mai frecventă entitate nozologică din șirul distrofiilor musculare (DM). Se transmite autosom dominant, are grad înalt de penetranță. Se caracterizează prin topografia unică de atrofie musculară asociată cu miotonia și modificări distrofice în țesuturile nonmusculare (cristalin, testicule și alte glande endocrine, piele, esofag, cord și în unele cazuri encefal).

Summary

Dystrophia Myotonica is distinguished by an autosomal dominant pattern of inheritance with a high level of penetrance, a unique topography of the muscle atrophy, an associated myotonia, and the occurrence of dystrophic changes in nonmuscular tissues (lens of eye, testicle and other endocrine glands, skin, esophagus, heart, and, in some cases, the cerebrum).

SPECTRUL MUTAȚIILOR GENEI FENILALANINHIDROXILAZEI LA BOLNAVII CU FENILCETONURIE DIN REPUBLICA MOLDOVA

Angela Gavriliuc¹, dr. în biologie; **Stanislav Groppa**², dr. h. în medicină, prof.univ., Centrul Național de Sănătatea Reproduserii și Genetica Medicală¹; Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”²

Mutațiile în gena fenilalaninhidroxilaza (FAH) cauzează o afecțiune autosomal-recisivă gravă– fenilcetonuria (FCU), care reprezintă una dintre cele mai răspândite dereglări ereditare ale schimbului de aminoacizi. Maladia se caracterizează prin afectarea preponderentă a sistemului nervos și prin diverse dereglări psihice, ca rezultat al modificării metabolismului fenilalaninei în organism, condiționat, la rândul său, de reducerea activității fermentului hepatic FAH.

Gena FAH este localizată pe brațul lung al cromozomului 12, în regiunea q22–24.1, are o lungime de 90 kb, este constituită din 13 exoni și codifică proteina ce conține 451 aminoacizi [1]. În prezent sînt descrise mai mult de 470 de mutații genetice, incidența cărora se caracterizează prin deosebiri fundamentale de la o populație la alta.

Materiale și metode. Pentru cercetările molecular-genetice întreprinse au fost folosite mostre de ADN colectate de la 59 de probanzi cu fenilcetonurie, forma clasică. Pentru toate familiile cu un astfel de diagnostic clinic, confirmat prin cercetările biochimice ale nivelului fenilalaninei serice, se completau fișe genetice cu alcătuirea obligatorie a arborelui genealogic detaliat.

Extragerea ADN-ului din limfocitele sîngelui venos a fost efectuată prin utilizarea metodei - standard de extracție fenol-chloroform. Amplificarea secvențelor de ADN prin metoda reacției de polimerizare în lanț s-a realizat cu programarea termociclerului cu utilizarea ADN-polimerazei.

Rezultate obținute și discuții. Mutația R408W, care duce la pierderea a 97% din activitatea fermentului FAH [1], este răspândită pe larg în Europa de Est și de Nord. La populația Republicii Moldova a fost identificată pe 58 din 118 cromozomi mutanți. Din 59 de pacienți, la 43 manifestarea FCU era legată de prezența mutației în starea de homo- și heterozigotă (respectiv 25% și 48%). Ca și în alte țări ale Europei, în Republica Moldova mutația dată este una predominantă și constituie 49% din toate alelele mutante.

În urma analizei cuplării dezechilibrate a mutației genei FAH cu haplotipul VNTR-Msp I(a)-Pvu II(a)-Bgl II s-a constatat că printre cromozomii cu mutația R408W cel mai răspândit este haplotipul 380-A₂-E₂-D₁ (84%), care corespunde, conform datelor bibliografice, haplotipului PLFR 2 [2]. Acest haplotip indică asupra unei asocieri destul de puternice cu mutația R408W în estul Europei și în țările

Bazinului Baltic, ceea ce demonstrează originea baltico-slavă a acestei mutații. În Europa de Nord-Vest ea a indicat un grad înalt al dezechilibrului de cuplare cu haplotipul PLFR 1 (530-A₂-E₂-D₁), iar în populația republicii acest haplotip purtau doar 7% din cromozomii cu mutația R408W. Analiza asocierii mutațiilor R408W cu anumite haplotipuri ale cromozomilor mutanți, potrivit locusurilor cercetate ale genei FAH, duce la concluzia că, în principiu, această mutație în populația Moldovei este de origine baltico-slavă. Prezența altor haplotipuri asociate cu mutația R408W în eșantionul de bolnavi poate fi explicată, probabil, prin prezența în genofondul republicii a altor componenți etnici.

Mutația P281L descrisă mai sus pentru bolnavii din sud-estul Europei se întâlnește mai frecvent în Croația (12%) [3] și în Grecia (10%) [4]. În populația republicii mutația cuprinde 5,1% dintre toți cromozomii mutanți. De patru ori ea a fost depistată în heterozigotul – compaund cu mutația R408W și de două ori în compaund cu o mutație neidentificată (P281L/X). În cadrul eșantionului nostru s-a descoperit cuplarea mutației P281L cu haplotipul PLFR 1, care este asociat cu VNTR 7 sau VNTR 8.

Mutația R261Q întâlnită la toate populațiile europene a fost înregistrată la doi bolnavi cu genotipul R408W/R261Q, iar la alți doi în compaund cu o mutație neidentificată (R261Q/X). Incidența acestei deficiențe mutaționale în eșantionul cercetat constituie 3,4% (*fig. 1*). Cea mai mare incidență a acestei mutații a fost descrisă ca fiind în Elveția (32%) și Franța (17%) [5]. Datele cu privire la eșantioanele noastre sînt comparabile cu incidența mutației în regiunea Moscovei (3,2%) [6] și în Spania (3,9%) [7]. Analiza corelării mutației R261Q cu haplotipul VNTR-Msp I(a)-Pvu II(a)-Bgl II a demonstrat că trei din patru cromozomi (75%) sînt asociați haplotipului 530-A₂-E₂-D₁, iar unul cu haplotipul 380-A₁-E₁-D₁. Pe baza datelor obținute s-a constatat că în cadrul eșantionului nostru mutația R261Q are două puncte independente de apariție: în primul rând, este cuplată cu haplotipul 1 (530-A₂-E₂-D₁), analogic cu alte populații europene, iar, pe de altă parte, mutația dată este cuplată cu haplotipul 380-A₁-E₁-D₁ analogic cu eșantionul din Sankt-Petersburg [8].

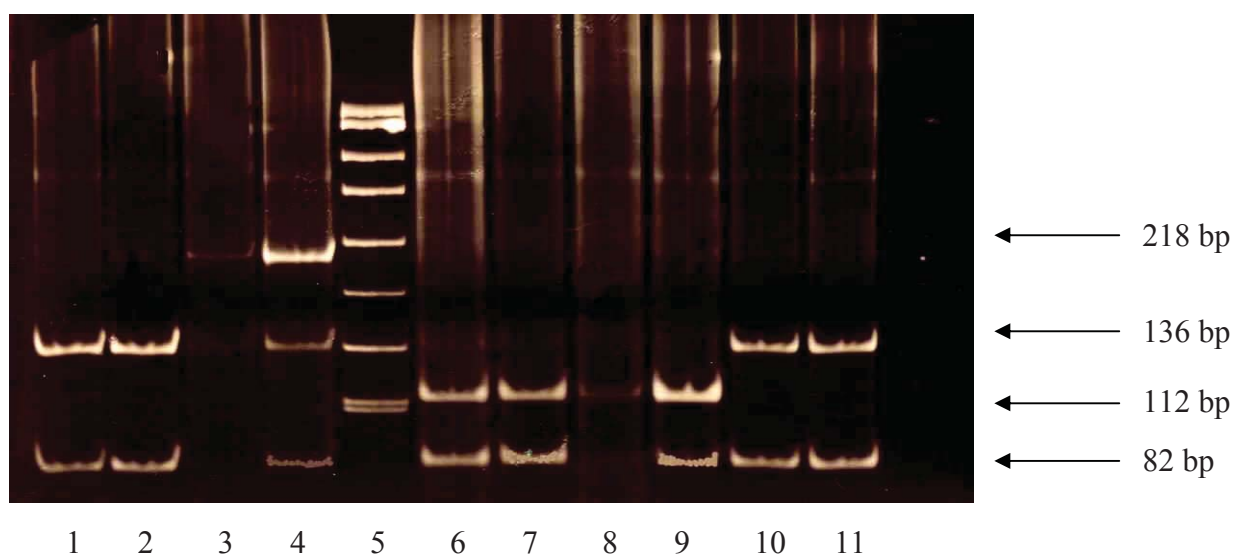


Fig. 1. Electroforegrama analizei ADN-lui exonului 7 al genei FAH (după restricția Hinf I și Ava I); 5 – markerul masei moleculare pUC19/Msp I; 1,2,6,7,9 – bolnavii care nu sînt purtători ai mutației R261Q și R252W; 4 – purtător heterozigot al mutației R261Q; 10,11 – purtătorii heterozigoți ai mutației R252W

În cadrul eșantionului cercetat mutația R252W a fost depistată pe cromozomii mutanți în 3,4% din cazuri (*fig. 1*). Cea mai mare incidență a acestei mutații s-a constatat în Sankt-Petersburg (2,8%) [8] și în Portugalia (3,3%) [9]. Astfel, incidența mutației R252W în Republica Moldova este una dintre cele mai înalte comparativ cu incidența în celelalte populații europene studiate anterior. La bolnavii examinați această mutație a fost depistată o singură dată în compaund cu mutația R408W (R252W/R408W), o dată în compaund cu mutația R158Q (R252W/R158Q) și de două ori în compaund cu o mutație neidentificată (R252W/X). În cadrul eșantionului nostru s-a constatat o asociere

strânsă a acestei mutații cu haplotipul PLFR 1, deoarece pe cromozomii cercetați era înregistrată doar alela VNTR 530 bp.

Mutația R158Q s-a stabilit în toate cazurile în stare heterozigotă. Într-un caz în compaund cu mutația R252W (R158Q/252W) și în două cazuri în compaund cu o mutație neidentificată (R158Q/X). În Olanda și Danemarca a fost înregistrată cea mai mare incidență a acestei mutații (13,2%) [10]. Incidența ei în Republica Moldova este mai mică (2,5%) decât în populațiile europene studiate anterior, dar este comparabilă cu datele obținute la populația turcă, la care R158Q este depistată cu o incidență de 2,3% [11]. Analizând datele privitor la cuplarea acestei mutații, s-a constatat că în cazul eșantionului nostru, la fel ca și la alte populații europene, s-a depistat o asociere strânsă cu VNTR 3 și haplotipul PLFR 4.

Mutația site-ului splicing IVS10nt546, răspândită mai mult în țările din bazinul Mării Mediterane, a fost depistată la un bolnav în stare homozigotă, iar la altul în compaund cu o mutație neidentificată, ceea ce a constituit 2,5% din toate deficiențele genei FAH. O incidență mai mare a acestei mutații a fost constatată în Mexic – 42% [12]. Datele cu privire la populația Republicii Moldova sînt comparabile cu incidența mutației studiate în Cehia (2,6%) și se deosebesc radical de datele privind populația turcă (32%) [11]. Potrivit datelor obținute, mutația se asociază cu haplotipul PLFR 6 și este cuplată cu VNTR 7.

În eșantionul nostru la doi bolnavi în stare heterozigotă a fost stabilită mutația splicing IVS12nt1: la unul cu haplotipul IVS12/R408W, iar la celălalt în compaund cu o mutație neidentificată (IVS12/X), ceea ce a constituit 1,7% din toate alelele mutante. Incidența mutației în populația republicii corespunde cu datele privind populațiile din Sankt-Petersburg (1,9%) [8] și Polonia (2,3%) [13]. Mutația IVS12nt1 este cea mai răspândită în Danemarca – cu o cotă de 37% din toate alelele mutante [14]. În eșantionul nostru această mutație este strâns asociată cu haplotipul PLFR 3 și cuplată doar cu VNTR 8.

Concluzii

Identificarea a șapte dintre cele mai frecvent întâlnite mutații a permis determinarea defectului molecular pe cromozomii mutanți în 67,6% din cazuri referitor la populația Republicii Moldova.

Bibliografie selectivă

1. DiLella A., Huang W., Woo S., *Screening for phenylketonuria mutations by DNA amplification with the polymerase chain reaction* // Lancet, 1988; 5:497-9.
2. Eisensmith R., Okano Y., Dasovich M., *Multiple origins for phenylketonuria in Europe* // Amer Jour Hum Gen, 1992; 51(6):1355-65.
3. Baric I., Mardesic D., Gjuric G., *Haplotype distribution and mutations at the PAH locus in Croatia* // Hum Gen, 1992; 90(1-2):155-7.
4. Traeger-Synodinos J., Kanavakis E., Kalogerakou M., *Preliminary mutation analysis in phenylalanine hydroxylase gene in Greek PKU and HPA patients* // Hum Gen, 1994; 94(5):573-5.
5. Abadie V., Jaruzelska J., Lyonnet S., *Illegitimate transcription of the phenylalanine hydroxylase gene in lymphocytes for identification of mutations in phenylketonuria* // Hum Mol Gen, 1993; 2(1):31-4.
6. Чарикова Е., *Изучение спектра точечных мутаций в гене PAH у больных ФКУ в Москве и Московской области* // Автореф. дис. канд. биол. наук, М:1995, 22 p.
7. Perez B., Destiviat L., Ugarte M., *Analysis of the PAH gene in the Spanish population: mutation profile and association with intragenic polymorphic markers* // Amer Jour Hum Gen, 1997; 60:95-102.
8. Барановская С., *Молекулярно-генетический анализ фенилкетонурии в Санкт-Петербурге* // Автореф. дис. канд. биол. наук, С.-Петербург, 1996, 21 с.
9. Caillaud C.B Vilarinho L.B Vilarinho A., *Linkage disequilibrium between phenylketonuria and RFLP haplotype 1 at the phenylalanine hydroxylase locus in Portugal* // Hum Gen, 1992; 89(1):69-72.
10. Meijer H., Jongbloed R., Hekking M., *RFLP haplotyping and mutation analysis of the phen-*

ylalanine hydroxylase gene in Dutch phenylketonuria families // Hum Gen, 1993; 92(6):588-92.

11. Ozguc M., Ozalp I., Cosgun T., *Mutation analysis in Turkish phenylketonuria patients* // Jour Med Gen, 1993; 30(2):129-30.

12. Nicolini H., Cruz C., Camarena B., *Molecular analysis of phenylalanine hydroxylase gene in Mexican phenylketonuric patients* // Arh Med Res, 1995; 26(1):53-7.

13. Zygulska M., Eigel A., Aulehla-Scholz C., *Molecular analysis of PKU haplotypes in the population of southern Poland* // Hum Gen, 1991; 86:292-4.

14. Guldborg P., Henriksen K., Guttler F., *Molecular analysis of phenylketonuria in Denmark: 99% of the mutations detected by denaturing gradient gel electrophoresis* // Genomics, 1993; 17(1):141-6.

Rezumat

S-a efectuat analiza molecular-genetică a genei FAH în 59 de familii cu FCU. Au fost efectuate cercetările a 7 mutații cel mai frecvent răspândite ale genei FAH, care în sumă reprezintă 67,6% alele defecte: R408W (49%), P281L (5,1%), R261Q (3,4%), R252W (3,4%), IVS10nt546 (2,5%), R158Q (2,5%), IVS12nt1 (1,7%).

Summary

We performed molecular-genetics analysis of the phenylalanine hydroxylase gene of 59 patients with classical PKU. Were investigated 7 of more frequent PAH gene mutations which in overall shared 67,6% of defective alleles: R408W (49%), P281L (5,1%), R261Q (3,4%), R252W (3,4%), IVS10nt546 (2,5%), R158Q (2,5%), IVS12nt1 (1,7%).

VALOAREA ELECTROMIOGRAFIEI CU AC-ELECTROD ÎN DIAGNOSTICUL ȘI TRATAMENTUL MENINGIOAMELOR SPINALE

Mohamed Ali Al-Khalaf¹, doctorand, **Mihail Gavriliuc²**, dr.h. în medicină, prof. univ.,
Grigore Zapuhliu¹, dr.h. în medicină, prof. univ.,
USMF „Nicolae Testemițanu”¹, Institutul de Neurologie și Neurochirurgie²

Meningioamele reprezintă un sfert din tumorile primare ale măduvei și canalului spinal. Diagnosticul cert al lor este o problemă permanent actuală a neurologiei și neurochirurgiei clinice, deoarece, cu toate că produc deficite neurologice serioase lent progresive, sunt, în mare măsură, reversibile postoperator [3,4].

Meningioamele spinale ridică probleme de diagnostic diferențial cu metastazele și neurinoamele [1,9]. Repartiția meningioamelor spinale de-a lungul axului vertebral este proporțională cu lungimea celor trei segmente vertebrale. La nivelul coloanei cervicale se află 15-20%, între 65 și 83% se află la nivel toracic, meningioamele lombosacrate reprezintă 4% din meningioamele spinale.

Majoritatea tumorilor sînt poziționate lateral față de măduvă, între 9 și 18% sînt așezate dorsal, iar între 4 și 15% – ventral [5,8]. Meningioamele spinale au o prevalență netă la femei, raportul între cele două sexe fiind de 8-10 : 1 în favoarea femeilor. Majoritatea tumorilor se manifestă clinic între 40 și 70 de ani, deși se întîlnesc cazuri atît la copii și adolescenți, cît și la persoane vîrstnice. La vîrstele extreme proporția meningioamelor este redusă. La copii repartiția pe sexe este aproximativ aceeași.

Majoritatea meningioamelor spinale sînt de tip sincițial și tranzițional, adică sînt benigne [9]. Meningioamele spinale produc tablouri clinice particulare, în funcție de localizarea tumorii de-a lungul canalului vertebral. La momentul actual prima opțiune în diagnosticul paraclinic al unui meningiom spinal este examenul prin rezonanță magnetică [2]. Tumora apare hipo- sau izointensă pe imaginile ponderate în T₁ și ușor hiperintensă pe imaginile ponderate în T₂. După injectarea intravenoasă a gadoliniumului, tumora preia contrastul și devine uniform hiperintensă.

În același timp, în diagnosticul și monitorizarea meningioamelor spinale nu sînt deplin eluci-